

利用“分层法”综合评价中药复杂体系药效^{*}

□申 佳 陶佳林 赵玉男 邢东明 林 晗 杜力军^{**}

(清华大学生物科学与技术系药物药理研究室 北京 100084)

摘要:对综合评价中药复杂体系药效的数学方法进行了理论分析,在此基础上提出了一种较全面客观地反映中药抗病能力的量化结果的数学方法——分层法,并建立了相应的数学模型。对中药药效多因素的评价决策问题进行理论探讨。用此方法综合比较9种不同配比的银杏叶(EGb)提取物有效成分治疗心脑血管疾病的疗效,比较结果符合实际情况。实例实验的结果验证了此方法的相对合理性和实用性。

关键词:中药 药效评价 数学方法

用数学方法评价中药药效就是以某种或多种运算方法将实验中所得到的繁杂、无序的数据整合起来,得到一个能够较为科学、全面地反映药物对抗疾病的能力的量化的结果。在药效评价的数学模型研究上,许多研究机构都做了一定的工作,归纳起来主要产生了以下评价方法:(1)王智民等提出的“水闸门”法^[1]。该方法将疾病比喻成“洪水”,而将药物视为“闸门”,西药是一个完全能截住“洪水”的“大闸门”,而将中药中的多成分视为许多“小闸门”,这些“小闸门”的协同作用达到控制“洪水”的目的。该方法用数学语言形象地表达了中药作用的特点,并能量化某些中药实际治疗某种疾病的总体疗效。但是使用该方法之前必需分析清楚药物作用的各个靶点药物作用的先后顺序以及量化药物对各靶点的药效强度,而实际上这三组

数据都是很难得到的,这就限制了“水闸门”的应用。(2)杜力军等提出的“总分法”^[2]。该方法以效价法作为药物量效评价的前提,对药物结果做总分比较。它使用了以有效率或抑制率作为主要药效评价参数的方法,首次在此类方法中引入权重的概念,并且以统计结果反映各药在实验中表现的细微差别,它简洁易行,较为适用于中药量效关系不太明确的情况。该方法的不足之处是未考虑药物的效能和HILL系数以及量效相关性,且权重的评估方面带有主观色彩。(3)韩京艳等报道的“加和法”^[3]。该方法摒弃了上述2个方法中以有效率或抑制率作为评价参数的方法,而采用ED₅₀作为评价的主要参数,并引入S(量效曲线斜率)作为评价参数,这样可以反映药物作用的潜力;同时引入多种权重,有利于减少不同实验指标以及参数多寡对结果公正性的影响。该方法首次将校正因子这一概念用于评价模型中,使模型在数学上更加严谨。它还

收稿日期:2006-06-01

修回日期:2007-04-26

* 国家自然科学基金项目(30572340):用数学模型对石榴叶总鞣质及其主要活性成分对脂肪细胞作用的综合评价,负责人:杜力军。

** 联系人:杜力军,教授,本刊编委,主要从事药理学研究,Tel/Fax 010-62773630 E-mail lijundt@mails.tsinghua.edu.cn

保留了“水闸门”法中有关“水闸门”的思想,沿用了“总分法”中用统计结果反映药物在实验中细微差别的方法。更为重要的是它简便易行。该方法的缺点是公式中权重种类过多,对权重进行科学的赋值是个难题,若处理不当也容易使得结果偏向主观。此外,该方法还未考虑到各个评价项量纲一致的问题。(4)李敏^[4]等人在研究不同产地丹参提取物相关活性时提出了“聚类-矩阵和法”。该方法考虑了药效指标、量效曲线的相关系数和实验灵敏度对药效的影响,可以较客观、全面地反映样品之间的优劣;通过聚类分析,可得到各个样品间较直观的相似关系,提供半定量的评价结果。这种方法较为成熟,有相关的软件 MINITAB 13 进行数据处理,运用起来十分方便。但是这种方法仅仅考虑量效关系明确时的情况,这是这种方法的一个局限。

相对于某些作用的较专一的模式与靶点的化学药物而言,中药尤其是复方中药具有多模式、多靶点及协同作用等特点。用相对简单的数据比较等方法就能很方便地评价化学药药效,而中药药效的评价则是一个比较复杂的多因素的评价决策问题。虽然近年来在中药药效评价方面有了一些研究,这些研究尚不能方便、有效地应用。本文在研究分析了上述文献的基础上,结合我室的研究结果,改进并得出一个中药药效综合评价的数学方法——分层法(hierarchy evaluation)。

一、多因素决策的数学方法——分层法^[5-8]

该方法主要分三步完成,即整合实验指标,确定指标权重,得出量化结果。

1 实验指标的整合

在常规的药理学实验中,通常将实验分为体内(整体)和体外(离体)实验两部分。在整体部分能够得到的实验数据为:半数致死量(ID_{50})、量效关系及曲线(E, D, K, r)、药物在体内的代谢半衰期($t_{1/2}$);体外部分可以得到的是:半数有效剂量(ED_{50})、量效关系及曲线(E, D, K, r)。将其整合如下:

$$\text{整体项 } V = \frac{t_{1/2} \times K \times ID_{50}}{\sum (t_{1/2} \times K \times LD_{50})}$$

$$\text{体外项 } V = \frac{\frac{K}{ED_{50}}}{\sum (\frac{K}{ED_{50}})}$$

其中:

$t_{1/2}$ 代表药物在实验体内的代谢半衰期,反映药物有效的的时间,对于只测定一段时间内几个时间点上药物效用的情况,可以用药物效力降低 1/2 时对应的这段时间来代替;

K 代表量效曲线斜率,反映药物作用潜力,当数据过少,无法作量效曲线图时,可以用 $\sum(ED)$ 的平均值来代替;

ID_{50} 代表药物对实验体的半数致死剂量,反映药物毒性;

ED_{50} 代表药物对实验体的半数有效剂量,反映药物作用效力;

\sum 代表将不同药物在同一个指标下的整合数据加和,将单项整合数据进行归一化处理有利于减小实验操作者的操作误差导致的影响,同时消除了数据量纲的不一致。

对于实验中没有涉及到的参数一律以将其设为 1,但是必须注意的是所比较的各个药物参与评定的参数必须一致。

对于不同的实验,会有不同的实验指标,总的处理方法不变,即:正指标一般用乘法,负指标一般用除法,再将所得到的数据进行归一化。

2 指标权重的确定

(1) 建立递阶层次结构。

首先,把复杂问题分解为称之为元素的各组成部分,把这些元素按属性不同分成若干组,以形成不同层次。同一层次元素作为准则,对下一层次的某些元素起支配作用,同时它又受上一层次元素的支配。处于最上面的层次通常只有一个元素,一般是分析问题的预定目标。中间层次一般是准则、子准则。最低一层包括最终实验操作的指标。层次之间元素的支配关系不一定是完全的。每一层次中的元素一般不超过 9 个,因一层中包含数目过多的元素会给后面的两两比较判断带来困难;元素少于 3 个的,不能建立判断矩

阵,要用特殊方法处理。

(2)构造两两比较判断矩阵。

假定上层次元素 C 作为准则,对下一层次元素 A_1, A_2, \dots, A_n 有支配关系,我们的目的是在准则 C 下按它们的相对重要性赋予 A_1, A_2, \dots, A_n 相应的权重,这里我们用两两比较的方法。

在这一步中,决策要反复回答问题:针对准则 C,两个元素 A 和 A_j哪一个更重要些,重要多少,需要对重要多少赋予一定数值。这里使用 1-9 的比例标度,1,3,5,7,9 五个等级的意义见表 1。标度中 2,4,6,8 四个等级为上述相邻判断的中值。

对于 n 个元素来说,得到两两比较判断矩阵 A:

$$A = (a_{ij})_{n \times n}$$

判断矩阵具有如下性质:

- ① $a_{ij} > 0$
- ② $a_{ij} = 1/a_{ji}$
- ③ $a_{ii} = 1$

这里 A 为正的正反矩阵。由于性质 b)、c),事实上,对于 n 阶判断矩阵只需对其上(下)三角元素共 $n(n-1)/2$ 个给出判断。A 的元素不一定具有传递性,即未必成立等式: $a_{ij} \times a_{jk} = a_{ik}$ 。但上述等式成立时,则称 A 为一致性矩阵。

若第 i 个元素与第 j 个元素比较得 a_{ij} ,则第 j 个元素与第 i 个元素比较的判断为 $1/a_{ij}$ 。

(3)计算单一准则下元素的相对权重。

这一步要解决在准则 C 下, n 个元素 A_1, A_2, \dots, A_n 排序权重的计算问题,并进行一致性检验。对于 A_1, A_2, \dots, A_n 通过两两比较得到判断矩阵 A,解特征根问题:

$$A \omega = \lambda_{\max} \omega$$

所得到的 ω 经归一化后作为元素 A_1, A_2, \dots, A_n 在准则 C 下排序权重。在得到 λ_{\max} 后,需要进行一致性检验。

(4)计算各层元素的组合权重。

为了得到递阶层次结构每一层次中所有元素相对于总目标的相对权重,需要把第三步的计算结果进行适当的组合,并进行总的判断一致性检验。这一步骤是由上而下逐层进行的。最终计算结果得出最低层次

元素,即各具体实验指标的相对权重和整个递阶层次模型的判断一致性检验。

假定已经计算出第 k-1 层元素相对于总目标的组合排序权重向量:

$$a^{k-1} = (a_1^{k-1}, a_2^{k-1}, \dots, a_n^{k-1})^T$$

第 k 层在第 k-1 层第 j 个元素作为准则下元素的排序权重向量为:

$$b_j^k = (b_{1j}^k, b_{2j}^k, \dots, b_{nj}^k)^T$$

其中不受支配(即与 k-1 层第 j 个元素无关)的元素权重为零。令 $B_k = (b_1^k, \dots, b_n^k)$,则第 k 层 n 个元素相对于总目标的组合排序权重向量由下式给出:

$$a^k = B^k a^{k-1}$$

对于递阶层次组合判断的一致性检验,需要类似地逐层计算 C I。若分别得到了第 k-1 层次的结果 $C I_{k-1}, R I_{k-1}$ 和 $C R_{k-1}$,则第 K 层相应的指标为:

$$\begin{aligned} C I_K &= (C I_k^1, \dots, C I_k^m) \times a^{k-1} \\ R I_K &= (R I_k^1, \dots, R I_k^m) \times a^{k-1} \\ C R_k &= C R_{k-1} + C I_k R I_k \end{aligned}$$

这里 $C I_k^i$ 和 $R I_k^i$ 分别为 k-1 层第 i 个准则下判断矩阵的一致性指标和平均随机一致性指标。当 $C R_k < 0.1$ 时认为递阶层次在 k 层水平上整个判断有满意的一致性。

(5)特殊情况的处理。

即某一准则下的元素只有两个(只有一个元素时不用考虑权重问题)的情况,采用主客观相结合的方法来得到权重。

首先,以上层元素为准则,确定这两个元素所占的重要程度,赋以相应的百分比;然后,按照每个元素下层元素的数目对所赋的百分比进行修正,以减少主观判断所带入的不确定性。

假定两个元素 M、N 在以上层元素为准则的条件下占的重要程度为 P_M, P_N , M 有 m 个下层元素, N 有 n 个下层元素,则 M、N 在以上层元素为准则下的权重为:

$$\begin{aligned} a_M &= P_M \times m / (P_M \times m + P_N \times n) \\ a_N &= 1 - a_M \end{aligned}$$

若该层次为最底层元素,则计算所比较的不同药

物在该指标下所得到的实验数据的差异,以 δ 来衡量。假定元素 M 对应的各数据的差异为 δ_M , 元素 N 对应的各数据的差异为 δ_N , 则 M、N 在以上层元素为准则下的权重为:

$$a_M = P_M \times \delta_M / (P_M \times \delta_M + P_N \times \delta_N)$$

$$a_N = 1 - a_M$$

此层次无法进行一致性检验,下层次的一次性检验中关于 $C.I$ 和 $R.I$ 的表达式不变, $C.R.$ 的表达式变为:

$$C.R._k = C.R._{k-2} + C.I._k / R.I._k$$

计算相对于总目标的组合排序权重的方法跟普通情况一致。

3 得出量化结果

将每一项数据与其权重相乘后,进行加和并归一化,得出最终的量化结果。

二、银杏叶黄酮内酯不同配比的药效综合比较

以银杏叶 (EGb) 总黄酮和总内酯不同配比的药效综合比较为例^[9], 该实验研究了 9 种不同配比的银杏叶提取物有效成分对凝血系统、神经细胞损伤、体外脑组织 MDA(丙二醛)、NO(一氧化氮)及小鼠脑血流的作用,意图是评价不同配比银杏叶黄酮内酯提取物治疗心脑血管疾病方面的疗效优劣。

1 整合实验数据

分别有 s1-s9 等 9 种不同配比的银杏叶黄酮内酯参与 6 种指标下的比较,套用整合公式得到整合后的数据见表 2。

2 建立问题的递阶层次结构

EGb 黄酮内酯不同配比综合药效比较递阶层次结构如图 1 所示。请补充简要说明。

3 构造两两比较判断矩阵

以 EGb 对凝血系统的作用为准则,建立下层元素的两两判断矩阵(见表 3)。

按照事先约定,可以得到判断矩阵 P_i :

$$P_1 = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

以体外实验作为准则,建立下层元素的两两判断矩阵(见表 4)。

按照事先约定,可以得到判断矩阵 P_2 :

$$P_2 = \begin{bmatrix} 1 & 1/5 & 1 & 1/9 \\ 5 & 1 & 1/3 & 1 \\ 1 & 1/5 & 1 & 1/9 \\ 9 & 3 & 9 & 1 \end{bmatrix}$$

4 计算单一准则下元素的相对权重^[10]

首先,计算判断矩阵最大特征根所对应的特征向量,并进行归一化:

$$\omega_{P1} = (0.3333 \ 0.3333 \ 0.3333)^T$$

$$\omega_{P2} = (0.0574 \ 0.2864 \ 0.0574 \ 0.5989)^T$$

然后,进行一致性检验,先计算较高层次 P_2 的 $C.R.$:

$$C.I._{P2} = (4.1588 - 4) / (4 - 1) = 0.0529$$

$$R.I._{P2} = 0.89$$

$$C.R._{P2} = C.I._{P2} / R.I._{P2} = 0.0529 / 0.89 = 0.0594$$

结果显示 $C.R._{P2} < 0.1$, 说明判断矩阵 P_2 可以接受。

再计算较低层次 P_1 的 $C.R.$:

$$C.I._{P1} = (3 - 3) / (3 - 1) \times 0.0574 = 0$$

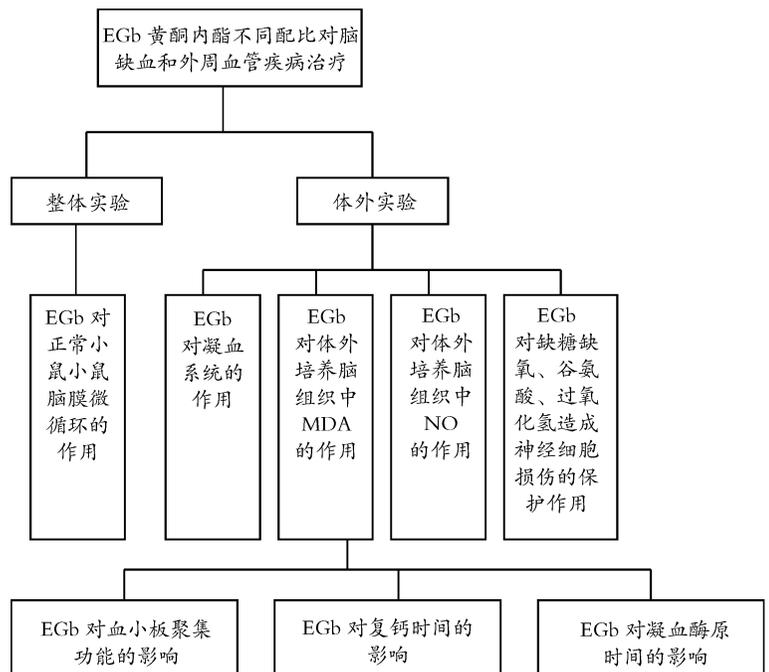


图 1 EGb 黄酮内酯不同配比综合药效比较递阶层次结构图

表 2 EGb不同配比综合药效整合数据

样品	V						
	对正常小鼠脑膜微循环的作用	对血小板聚集功能的影响	对复钙时间的影响	对凝血酶原时间的影响	对体外培养脑组织中MDA的作用	对体外培养脑组织中NO的作用	对神经细胞损伤的保护作用
s1	-	0.1844	0.1309	0.0873	0.1226	0.1400	0.3519
s2	-	0.0155	0.2619	0.1524	0.1332	0.0934	0.0024
s3	-	0.1689	0.0524	0.1317	0.1163	0.1037	0.5151
s4	-	0.0155	0.1165	0.1229	0.1499	0.3015	0.0057
s5	-	0.1231	0.0644	0.0962	0.1702	0.3417	0.0466
s6	-	0.0934	0.0655	0.0638	0.0915	0	0.0030
s7	-	0.1833	0.1233	0.1578	0.0506	0.0195	0.0169
s8	-	0.1100	0.0926	0.0547	0.0637	0	0.0012
s9	-	0.1059	0.0926	0.1332	0.1019	0	0.0572

注: s1 总黄酮; s2 总内酯; s3 天然配比; s4- s7 不同配比; s8 非黄酮内酯部分; s9 银杏叶提取物。“-”: 数据缺如。

表 3 两两判断矩阵 P_1

元素	两两比较结果		
	对血小板聚集功能的影响	对复钙时间的影响	对凝血酶原时间的影响
对血小板聚集功能的影响	相等	相等	相等
对复钙时间的影响	相等	相等	相等
对凝血酶原时间的影响	相等	相等	相等

表 4 两两判断矩阵 P_2

元素	两两比较结果			
	对凝血系统的作用	对体外培养脑组织中MDA的作用	对体外培养脑组织中NO的作用	对缺糖缺氧、谷氨酸、过氧化氢造成神经细胞损伤的保护作用
对凝血系统的作用	相等			
对体外培养脑组织中MDA的作用	强	相等	强	
E 对体外培养脑组织中NO的作用	相等		相等	
对缺糖缺氧、谷氨酸、过氧化氢造成神经细胞损伤的保护作用	非常强	较强	非常强	相等

$$R. I_{P1} = 0.52$$

$$C. R_{P1} = C. R_{P2} + C. I_{P1} / R. I_{P1} = 0.0594 + 0 / 0.52 = 0.0594$$

结果显示 $C. R_{P1} < 0.1$, 说明判断矩阵 $P2$ 可以接受。

以总目标为准则, 计算特殊情况下两元素的权重:

首先, 估计出整体实验和体外实验所占的比重, 它们分别为 35% 和 65%, 然后以下层元素作为参考进行校正, 可以得到:

$$a_{\text{整体}} = 0.35 \times 1 / (0.35 \times 1 + 0.65 \times 4) = 0.1186$$

$$a_{\text{体外}} = 1 - a_{\text{整体}} = 0.8814$$

5 计算各层元素的组合权重

根据总目标的组合排序权重计算公式, 将权重由上至下分配, 得到: 对正常小鼠脑膜微循环的作用 (权重 0.1186); 对血小板聚集功能的影响 (权重 0.0169); 对复钙时间的影响 (权重 0.0169); 对凝血酶原时间的影响 (权重 0.0169); 对体外培养脑组织中 MDA 的作用 (权重 0.2525); 对体外培养脑组织中 NO 的作用 (权重 0.0506); 对三种因素造成神经细胞损伤的保护作用 (权重 0.5278)。

6 根据权重排序得出最终结果

将数据与相应的权重相乘, 归一化, 得到最终的结果。不同配比综合药效比较以最终得分由大到小排序为: $s_3(0.3544) > s_1(0.2616) > s_5(0.1017) > s_9(0.0698) > s_4(0.0685) > s_2(0.0532) > s_7(0.0346) > s_6(0.0323) > s_8(0.0239)$ 。

7 讨论

由上述分析可以得到 9 种不同配比的银杏叶黄酮内酯药效得分及其排序, 其顺序为: $s_3 > s_1 > s_5 > s_9 > s_4 > s_2 > s_7 > s_6 > s_8$ 。由得分可以看出, s_3 (天然配比) 远远高于其他 8 种配比, 这也是国际普遍应用的银杏叶提取物的配比值, 符合实际情况。 s_1 (总黄酮) 位居第二得分也远高于其他配比, 总黄酮是天然银杏叶提取物中含量最高的成分 (约 24%), 它是经典的自由基清除剂, 而大脑疾病多由自由基攻击所引起的衰老有关, 因此, 这也是 s_1 位居第二的合理解释。 s_5 、 s_9 、 s_4

s_2 处于中游, 得分比较接近, s_9 是银杏叶粗提物, 内含较多除有效成分之外的杂质, 效果应当低于 s_1 ; s_2 为银杏叶提取物中另一主要有效成分总内酯, 其单独药理作用相关报道较少, s_5 、 s_4 为人为配比, 上述三种配比可能由于其中总黄酮、总内酯协同作用没有达到最佳, 使得效能远低于 s_3 (天然配比)。 s_7 、 s_6 、 s_8 位于最后得分都比较低, s_8 为非黄酮内酯部分, 已经有相关报道证明其无活性, s_7 、 s_6 可能由于其中缺少总黄酮、总内酯协同作用, 无法发挥其本来作用。

三、结 语

本文在以往研究的基础上, 改进并得出了一个相对客观、力求全面反映中药药效综合评价的数学方法。通过对实例的分析, 证明了此方法的实用性和相对合理性。这只是对中药药效综合评价的一种方法学探索, 尚需要进一步的研究和完善。

参考文献

- 1 王智民, 杜力军, 毕开顺. 中药药效评价的“水闸门”法. 世界科学技术—中药现代化, 2000, 2(5): 34~38
- 2 杜力军, 邢东明. 当前中药新药研制中药理学应用基础研究的几个命题及对策. 世界科技研究与发展, 2000, 22(2): 62~65.
- 3 韩京艳, 邢东明, 卢弘等. 对中药药效评价的方法学探讨. 哈尔滨商业大学学报 (自然科学版), 2001, 17(2): 4~6
- 4 李敏, 孙虹, 林佳等. 用聚类—矩阵和法评价不同产地丹参提取物相关活性. 世界科学技术—中药现代化, 2002, 4(1): 33~35
- 5 许树柏. 层次分析法原理 (第 1 版). 天津: 天津大学出版社, 1988, 6~13.
- 6 梁梁, 陈晓剑. 重要性与信息量的综合评价方法. 决策与决策支持系统, 1993, 3(3): 90~92
- 7 宋海洲, 王志江. 客观权重与主观权重的权衡. 技术经济与管理研究, 2003, No. 3: 62
- 8 张伯生. 确定权重的一种综合方法. 上海工程技术大学学报, 1999, 13(1): 27~32
- 9 韩京艳, 邢东明, 孙虹, 等. 银杏叶黄酮内酯及天然配对抗氧化作用的比较. 中国药理学通报, 2002, 18(1): 115~7.
- 10 陶佳林, 赵玉男, 王笑, 等. 利用“分层法”评价中药复杂体系药效时有关权重设立的讨论. 世界科学技术—中药现代化, 2005, 7(1): 33~37

Hierarchy Evaluation of Pharmacological Effects of Chinese Herbal Complex

Shen Jiu, Tao Jialin, Zhao Yunan, Xing Dongming, Lin Han, Du Lijun

(Laboratory of Pharmaceutical Sciences Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing 100084)

Compared with Western medicines that are mostly based on a single target with a single function, a Chinese herbal complex makes itself unique with a combined strength of multiple sites, and hence multiple functionalities. As a result, it is difficult to evaluate the pharmacological effects of a Chinese herbal complex, though it is easier to work out an accurate pharmacological effect of Western medicines using the proven and well-established mathematical methods. Many previous studies have tried to make better out of the evaluation of pharmacological effects of a Chinese herbal complex. Unfortunately, they are still distant from a point where the problem can be properly addressed. In this research, a new mathematical model, or Hierarchy Evaluation, has been created to better understand the multi-site and combined effects of a Chinese herbal complex. It improves evaluation results.

Key words: Chinese herbal complex; evaluation of pharmacological effects; mathematical method

(责任编辑:张述庆, 责任译审:邹春申)

(Continued from Page 42)

Screening and Cluster of Differentially Expressed MSCs Genes Induced by Shuanglong Prescription

Wang Jinjin, Qian Xiyuan*

School of science, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237

Li Xue, Yang Huohua, Liang Qionglin, Wang Yiming, Luo Guoan*

Modern Research center of TCM, Tsinghua University, Beijing 100084

To investigate the effect of Shuanglong prescription components on MSCs by using gene chips to screening and cluster the differentially expressed MSCs genes induced by Shuanglong Prescription. METHODS: BOAO rat microarrays (include 5705 rat genes) were used to prepare gene chips hybridized by cell total RNA of different conditions. The chips were scanned with LuxScan 10KA dual channels laser scanner of Capita Bio Company to look for the information of differently expressed genes. RESULTS: 128 differentially expressed genes (2.24%) were screened out from the 5705 target genes, which were found to be correlated with energy metabolism and signal transduction. Bioinformatics analysis suggests that MSCs changed remarkably in the period of 20 to 30 days. CONCLUSIONS: DNA microarray is an effective platform for the study and analysis of mechanisms of TCM. It can be concluded that Shuanglong Prescription components can induce MSCs to differentiate into cardiomyocytes.

Key words: Shuanglong Prescription; Gene chip; differentially expressed gene; hierarchical cluster method

(责任编辑:王 瑀, 郭 屹)